

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

PROGRAMA ACADÉMICO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Características cromosómicas de una especie del
género *Rhynchosciara* de la zona de La Merced
(Chanchamayo)**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Bachiller en Ciencias
Biológicas

AUTOR

Olga Hilda BRACAMONTE GUEVARA

Lima - Perú

1977

A Miguel Angel y René.

A Fernando.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento al Dr. Misael Guevara Paredes, Profesor del Departamento de Ciencias - Biológicas por su orientación y valiosa ayuda a lo largo del desarrollo de este trabajo.

A los Profesores Federico Sebastiani y Norberta Martínez L. por su cooperación en la discusión y manutención de la población.

A los Sres. Carlos Ramos Colan y Augusto Toyama T. por la ayuda brindada en las colectas realizadas.

Al Proyecto Multinacional de Genética (O.E.A.) bajo cuyos auspicios se inició el presente trabajo.

A todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron para la realización del presente trabajo.

S U M A R I O

	Nº Pág.
I. Introducción	1
II. Material y Métodos	16
III. RESULTADOS	18
IV. DISCUSION	56
V. CONCLUSIONES	67
VI BIBLIOGRAFIA	69

INTRODUCCION

El estudio de la estructura, funcionamiento y diferenciación cromosómica, constituye uno de los tópicos mas interesantes de la biología actual. Estas características son muy bien estudiadas en los cromosomas politénicos, que están presentes en muchos Dípteros (Insectos).

Los cromosomas politénicos han sido reconocidos en diferentes tejidos de los insectos, tales como glándula salival, intestino, tubo de malpighi, vesícula seminal y últimamente en células abdominales pericardiales (Pavan e Breuer, 1952; Berendes, 1963; Kambysellis and Wheeler (1972).

Los cromosomas politénicos fueron observados por primera vez por Painter (1933) y fueron denominados de "politénicos" por Swiftz (1967). Estas estructuras presentan al microscopio óptico, una serie de características morfológicas, las mismas que detallamos a continuación.

Los cromosomas politénicos sufren sucesivas replicaciones, que pueden ser producidas por endomitosis que conducen a un estado de politenia (Pavan, 1966). La politenia es causada por la división constante de las unidades cromosómicas, sin una separación subsiguiente del material duplicado, lo que origina un gran número de fibras cromoméricas exactamente iguales é intimamente unidas en posición "Tandem". En Chironomus, se observa un estado precoz de politenia que se manifiesta como una forma poco distendida del cromosoma, que a medida que aumenta la politenia va alargándose (Beerman, 1952). En los núcleos de glándula salival de Chironomus, se han podido observar hasta 32,768 cromonemas,

que corresponden a 14 ciclos de replicación (Besserer, 1956). y que tiene relación con el contenido de DNA en el cromosoma, como señala Daneholt y Edström (1967). En las larvas maduras de Drosophila donde el proceso de replicación es máximo, se han encontrado 1,024 cromonemas que corresponde aproximadamente a 9 ciclos de replicación cromosómica (Ashburner, 1970).

Los cromosomas politénicos presentan un patrón de bandas en una distribución lineal. Esta alineación ha sido estudiada en diferentes tejidos: en Sciara ocellaris (Berger, 1940); Drosophila melanogaster (Slizinsky, 1950); Rhynchosciara americana (") (Breuer e Pavan, 1952); Chironomus (Beerman, 1952); Telmatoctopus (Anabis e Simoes, 1972).

Las bandas cromosómicas resultan de la unión de los cromómeros apareados íntimamente, es decir, zonas fuertemente espiralizadas (Basile, 1969). También se observan zonas claras llamadas de interbandas, que son zonas menos espiralizadas del cromosoma, siendo su disposición característica de cada especie (Breuer e Pavan, 1952; Beerman, 1952; Wassermann 1954).

La distribución de las bandas ha sido asociada con la distribución de los genes a lo largo del cromosoma. Existe cierta evidencia de que cada banda individual del cromosoma politénico está asociado a un cierto locus génico. Esto -

(") Esta especie fué clasificada como Rhynchosciara angelae. Breuer (1969) reclasificó la especie como Rhynchosciara americana.

ha sido comprobado en trabajos realizados en Drosophila, con entrecruzamientos para el cromosoma X (Painter, 1934; Muller 1935; Berman, 1972; Lefebvre, 1974). Bridges (1935) señala 1 1012 bandas para el cromosoma X que no corresponde al número de loci génicos pues las bandas no han sido consideradas.

La constancia en la presencia de cierto número y característica de bandas para un determinado cromosoma de una especie, ha permitido la elaboración de patrones de bandas, divididas a su vez en regiones que van a permitir la comparación con otras especies (Bridges, 1935; Breuer, 1952).

El análisis de poblaciones de Drosophila flavenilosa, demuestra la existencia de polimorfismo con relación al reordenamiento de los genes en el cromosoma; ésto debido a inversiones que se presentan con frecuencia en la rama izquierda del cromosoma V (Brncik, 1962). La variación de los patrones de bandas encontradas en otras especies como Drosophila willis-toni y Drosophila robusta, está relacionada con inversiones que involucran a los demás cromosomas (Stone, 1955; Da Cunha, 1960).

Básicamente en el cromosoma politénico se pueden reconocer dos regiones: la heterocromatina y la eucromatina. La heterocromatina permanece condensada durante todo el ciclo celular a diferencia de la eucromatina que parece condensarse durante la mitosis y descondensarse durante la interfase. En D. melanogaster, las áreas centroméricas de los cromosomas autosómicos, se rodean de bloques heterocromáticos, al igual que

la tercera parte del cromosoma X en su porción terminal y todo el cromosoma Y (Hsu, 1974).

Como en los cromosomas politénicos ocurren modificaciones tanto en el aspecto de su morfología como en el de su funcionamiento, esas modificaciones, pueden ocurrir en la región heterocromática y a lo largo de las diferentes bandas cromosómicas ubicadas en la región eucromática.

Aunque la heterocromatina se encuentra asociada a las regiones centroméricas en los cromosomas de diferentes especies, se ha observado que existen juegos cromosómicos enteros que aparecen heterocromáticos, como ocurre en Planococcus citri, cuya procedencia es de origen materno; careciendo de expresión fenotípica (Hsu, 1974). Al parecer la heterocromatina presenta dos tipos básicos de configuración. Uno que contiene genes estructurales citológicamente condensados y genéticamente inactivos, que depende del estado de desarrollo y fisiología; a éste tipo se le denomina de heterocromatina facultativa. El otro tipo de heterocromatina que recibe el nombre de heterocromatina constitutiva, se caracteriza por no presentar genes estructurales (Brown and Nelson-Rees, 1961; Brown, 1966; Hsu, 1974).

La función de la heterocromatina constitutiva, no ha sido plenamente establecida a pesar de que inicialmente se le ha considerado genéticamente inerte. Muller y Painter (1932) y Muller (1947), señalan que la heterocromatina facultativa, es una región especializada, con material genético (DNA) que no se distingue de la eucromatina y que debe tener la misma capacidad

de replicación. Se sabe que ésta región va a sintetizar RNA, pero se desconoce su función. Por otro lado los cromosomas sexuales siendo heterocromáticos no son considerados genéticamente inertes (Swanson e col. 1968): Mather (1941) ha asociado la función de la heterocromatina con genes responsables de la variación cuantitativa.

La distribución de la heterocromatina en el núcleo, es casi regular en todas las células y se le ha encontrado asociada al nucléolo cerca de la membrana nuclear principalmente rodeando al centrómero.

En R. americana, la heterocromatina se encuentra distribuida en forma mas o menos equitativa entre los cuatro cromosomas politénicos de glándula salival (Dreyfus e col., 1951; Breuer o Pavan, 1955). En el cromosoma A, la región heterocromática se encuentra ubicada en la región 11. En el cromosoma B se encuentra ubicada en la región 15. En el cromosoma C, se encuentra en la región 11 y en el cromosoma X se encuentra en la región 12 (Guevara, 1973).

La región heterocromática de R. americana, demuestra que ésta no permanece inerte, lo que ha quedado evidenciado ampliamente con la técnica de autorradiografía (Pavan, 1965; Simoes e Cestari, 1969; Amabis e co., 1969; Simoes e Cestari, 1976).

Los cromosomas politénicos no se encuentran en el núcleo, separados unos de otros, por el contrario, parece que están reunidos en una región central denominada cromocentro.

El cromocentro, es una estructura que reúne a todas las regiones heterocromáticas, de manera que dé éste bloque nacen los brazos cromosómicos.

La presencia del cromocentro ha sido también reportada en cromosomas somáticos de vertebrados superiores (Hungerfor, 1964), en plantas (Wagenaar, 1969) existiendo diferencias entre la estructura del mismo.

En D. melanogaster, se puede observar la presencia de un cromocentro que reúne las regiones heterocromáticas de los cuatro cromosomas (Freire Maia e Pavan, 1949). En D. nasutoides, se observa claramente los cuatro brazos cromosómicos, pero sin marcados cromocentros como los observados en D. melanogaster y D. virilis (Cordeiro e col., 1975). Algunas especies de Ceocidomidae, no presentan cromosomas unidos por un centrómero típico (White, 1948).

En algunas especies de Rhynchosciara, se observa el cromocentro con mayor nitidez durante la época temprana de la vida larval, siendo más fácil observarlos en los núcleos de tubo de malpighi. Se puede también decir que el cromocentro se hace menos visible conforme avanza la edad de la larva (Dreyfus e col., 1951; Basile e col., 1970; Guevara, 1971, 1975).

En R. americana, se ha observado la presencia del cromocentro en núcleos de glándula salival, intestino y tubos de malpighi. En éstos tejidos, el cromocentro se presenta como una masa compacta que se va haciendo frágil conforme avanza la edad de la larva (Guevara, 1975).

En algunos núcleos, los cromosomas se observan unidos por unas estructuras filamentosas llamadas ligaciones. Estos filamentos son de naturaleza cromática, siendo frecuentes en núcleos de glándula salival, intestino y tubo de malpighi.

Las ligaciones pueden ser de dos tipos: intracromosómicas e intercromosómicas. Las ligaciones pueden presentarse en forma constante o en determinada época de la vida larval, de algunas zonas cromosómicas.

Las ligaciones intracromosómicas observadas, pueden explicarse como estructuras de unión entre zonas de un mismo cromosoma, que presentan zonas repetidas. Han sido consideradas también, como asociaciones de regiones que presentan homologías (Bridges, 1935; Metz, 1947; Guevara, 1975).

Las ligaciones intercromosómicas, pueden unir zonas heterocromáticas y/o zonas eucromáticas. Algunas ligaciones se han detectado esporádicamente en los cromosomas y se han tratado de explicar como la resistencia del cromosoma para romper su unión con los otros cromosomas o con ellos mismos, en el momento de la preparación citológica.

En D. melanogaster, las ligaciones son de tipo terminal, ligando los extremos del cromosoma y habiendo sido observadas solamente en glándula salival (Bauer, 1936; Prokofyeva-Belovskaya, 1947; Kauffman, 1969). En R. americana, Guevara (1975) señala la presencia de ligaciones intracromosómicas e intercromosómicas a lo largo del desarrollo larval en glándula salival, intestino y tubos de malpighi.

El nucléolo, es otra estructura presente en células de diferentes tejidos. El nucléolo se presenta como un cuerpo muy denso, asociado a una región del cromosoma, la Región Organizadora del Nucléolo (RON). Esta estructura, conforme avanza el proceso de espiralización va desapareciendo. El nucléolo puede ser uno ó mas, de acuerdo a la especie al cual pertenece. Químicamente el nucléolo está constituido por DNA, RNA y Proteínas, cuya cantidad depende de la actividad metabólica (Casperson, 1950; Vincent, 1952, 1955; Maggio e col., 1963). Casperson y Schultz (1940), reportaron la presencia de núcleo proteína por medio del espectro de absorción. Así mismo, Albuquerque y Serra (1951), reportaron la presencia de fosfolípidos.

La posición del organizador nucleolar en los cromosomas metafásicos de D. Hyde, fueron detectados por hibridización "in situ". Se sabe por eso que existen los organizadores nucleolares en los extremos de los brazos del cromosoma Y, así como también en regiones especiales del cromosoma X (Henning e col, 1975). En preparaciones de glándula salival de D. melanogaster, los nucléolos pueden observarse como un corpúsculo globular con una delgada banda de cromatina, que puede estar dentro del cromocentro o en la porción basal del cromosoma X (Viinika e col, 1971). En larvas de Telmatoscopus sp. el nucléolo se observa como un corpúsculo globoso en los cromosomas II y IV. Se ha podido ver en éste género, la formación de nucléolos heterocigotos que a menudo se originan en el cromosoma IV (Amabis e Simoes, 1972).

En Hyboscilará fragilis, el nucleólo se manifiesta como micro nucleólos. Estos pueden observarse adheridos a la heterocromatina o a diferentes regiones del cromosoma (Da Cunha e col., 1969). En el cromosoma X de H. fragilis, se forman dos grandes puffs, uno de los cuales tiene la característica de un nucleólo (puff nucleolar) y se ha observado en varias células de larvas jóvenes (Da Cunha e col., 1969).

En R. americana, el nucleólo se halla con mucha frecuencia unida a la región basal del cromosoma X. En algunas ocasiones se ha observado la presencia del nucleólo dentro de la región cromocéntrica, de preferencia en los estadios juveniles (Guevara, 1971).

En algunas regiones del cromosoma politénico, se pueden observar unos ensanchamientos que resultan de la desespiralización del propio cromosoma. Se ha relacionado la secuencia de las bandas de un determinado cromosoma con la disposición lineal de los genes. Apoyados en este concepto se podría señalar que la manifestación de la actividad génica se puede apreciar morfológicamente como la formación de anillos de Balbiani y puffs.

Algunas bandas se presentan dando la impresión de estar quebradas a partir de las cuales se están formando prolongaciones a manera de asas. Estas estructuras fueron llamadas de anillos de Balbiani (Beerman, 1952; Beerman and Clever, 1964). Estas estructuras han sido encontradas con frecuencia en Chironomus (Beerman, 1952) y Telmatoscopus (Amabis e Simoes, 1972).

Análisis realizados a nivel del RNA producido por los anillos de Balbiani en Chironomus, llevan a considerarlo como siendo RNA-m, pues la secuencia de bases presentada es significativa (Beerman and Clever, 1964). Se ha evidenciado el movimiento del RNA-m en anillos de Balbiani, usando micrografías electrónicas que revelan la presencia de RNP que puede apreciarse también flotando a nivel de los poros de la carioteca (Beerman and Clever, 1964).

Los puffs se distribuyen a lo largo del cromosoma y se pueden encontrar constantemente en una determinada banda o región, en diferentes tejidos de la larva y en diferentes estadios del desarrollo larval (Beerman and Clever, 1964).

Morfológicamente, los puffs se producen por descondensación de los cromómeros individuales de una banda (Swift, 1962). La coherencia de los filamentos del cromosoma se afloja, perdiéndose sus contornos bien definidos y apreciándose hinchazones a lo largo del cromosoma.

Básicamente los puffs cromosómicos producen gran cantidad de DNA y RNA. Las bandas que solo contienen DNA y proteínas del tipo histomas cuando entran en proceso de descondensación, permanecen con el material antes mencionado, constante, pero al mismo tiempo aumenta la cantidad de RNA. Las bandas que solo contienen DNA y proteínas del tipo histomas cuando entran en proceso de descondensación, permanecen con el material antes mencionado, constante, pero al mismo tiempo aumenta la cantidad de RNA. Durante el proceso de regresión de los puffs, el RNA es eliminado del cromosoma como micronucléolo, pasando al nucleoplasma para dirigirse al citoplasma a cumplir su función (Pavan, 1965).

En algunos dípteros se presentan puffs heterozigotos que son expansiones originadas en una o mas bandas, pero que se manifiesta de manera diferente uno y otro lado de la banda cromosómica. En Telmatoscopus se han encontrado casos de puffs asimétricos que se han señalado como indicios de una forma heterozigota, en los cuales solo un alelo es funcional (Amabis e Simoes, 1972).

El DNA formado en la región de los puffs se presenta a manera de una red muy densa que posteriormente se va a condensar, determinando la regresión de dicha zona (Breuer, e Pavan, 1955, Pavan e Breuer, 1955; Ficq-Pavan e Brachet, 1958; Pavan, 1964). El análisis del contenido de los productos de la transcripción de los puffs de DNA, sobre el de la región B2 del cromosoma B de R. americana, está involucrado en la producción de RNA-m (Bonaldo e col., 1976).

Cuando se produce la regresión de los puffs de Rna, las bandas permanecen invariables, es decir, no modifican su estructura. Esto no ocurre para el caso de los puffs de DNA, donde la regresión de éstos, implica la modificación de la respectiva región; esta aparece mas gruesa tomando la apariencia de una banda heterocromática. En R. americana, se observan puffs de DNA en la región 2 y 3 del cromosoma B y C (Breuer e Pavan, 1955). Guevara (1973), reporta la presencia de éstos puffs en otras zonas de los cromosomas A,B,C y X de la glándula salival de R. americana.

En Ri americana, se observa la síntesis de DNA extra o metabólico. Esta síntesis extra de material genético, procede a un periodo de gran actividad en los locus involucrados. Esto se puede interpretar como una adaptación del organismo de una cierta proteína indispensable en determinado momento del desarrollo larval (Guevara, 1971). Esto indicaría que el DNA asociado a las proteínas no se encuentra regularmente a lo largo del cromosoma. Por el contrario, existen regiones de alta concentración de DNA y proteínas, que son zonas de bandas marcadas y regiones de baja concentración de DNA y proteínas, que son las regiones de interbandas (Ashburner, 1970).

Las investigaciones en cromosomas politénicos han llevado a la confección de mapas citológicos de estas estructuras nucleolares. Para ello se ha considerado el patrón diferencial de bandas transversales que incluyen áreas cromáticas y áreas acromáticas.

Estas bandas difieren en grosor y en otros aspectos estructurales de una manera específica, lo que permite el exacto mapeamiento de cada cromosoma en toda su longitud.

Entre las características más notables, podemos señalar las constricciones primarias (centrómero), heterocrematina y las manifestaciones fisiológicas (puffs) que ocurren a lo largo del cromosoma.

El patrón de bandas encontradas en cada especie es constante y hace posible identificar cada unidad cromosómica y sus diferentes regiones.

Las diferencias entre el patrón de bandas, en diferentes organismos podría indicar la diferencia de una especie a otra. La semejanza entre uno y otro patrón, podría indicar la relación con un determinado patrón génico (Pavan e Breuer, 1952).

Berger (1940), comparó el patrón de bandas de los cromosomas politénicos de las glándulas salivales e intestino de Sciara ocellaris y encontró un patrón similar. Koswigg and Shengun (1947), observaron que el patrón de bandas de Chironomus es constante en células de diferentes tejidos del mismo individuo.

El estudio de los cambios estructurales producidos en los cromosomas, ha hecho posible descubrir que los genes tienen el mismo orden lineal en los cromosomas (mapas cromosómicos) como el que tienen en mapas de entrecruzamiento.

A lo largo del cromosoma se ha podido señalar regiones determinadas por las bandas más frecuentes, que pueden también subdividirse en zonas, cada una con características morfológicas y fisiológicas propias.

En los mapas se ha considerado dos etapas del desarrollo larval: las bandas cromosómicas cuando no han sintetizado ácidos nucleicos (DNA ó RNA) y luego cuando estas bandas están en plena actividad. Posteriormente se analizan ambas situaciones.

En Sciara ocellaris, han sido designados los cuatros cromosomas de diferentes longitudes como: I, II, III y IV, de acuerdo con el sistema empleado por Crouse (1943) y como cromosoma X, C, B y A por Metz (1943); considerado también la longitud del cromosoma.

Glossina morsitans morsitans, posee tres cromosomas politénicos en sus núcleos. Para la elaboración del mapa se ha considerado los tres cromosomas como una sola estructura, procediendo a numerar de 1 a 100 unidades, teniendo en cuenta el número de bandas y una división proporcional a éstas. Cada cromosoma posee dos ramas que se llaman derecha (R) e izquierda (L). Así el cromosoma sexual se representa: XR (1-21), XL (22-36). Los restantes cromosomas se representan como : L1R (37-55), L1L (56-72), L2R (73-87), L2L (88-100). (southern, Pell and Craig Cameron, 1973).

En R. americana, se ha elaborado un mapa cromosómico de acuerdo con el método utilizado por Pavan e Breuer (1952), para el patrón de bandas. El patrón de puffs se ha designado por el número de la sección en la cual aparecen. Cuando los puffs son varios en una región, se les designa añadiendo una letra a la nomenclatura anterior, siendo ésta en orden alfabético y comenzando por la región terminal (Guaraciaba e Toledo 1967).

Mathingly y Parker (1967), han considerado para la elaboración del mapa de una especie del género Rhynchosciara, el método utilizado por Breuer y Pavan (1952) en términos generales. Sin embargo han introducido algunas variantes en relación al número de regiones en los cromosomas B, C y X. Así mismo han presentado otro patrón de puffs, presencia de inversiones y otras características propias de la especie estudiada.

Debemos hacer mención a la presencia de asinapsis parcial en los cromosomas politénicos. En D. melanogaster, se ha observado una asinapsis en la región 20 del cromosoma X, muy cerca de la región nucleolar (Viinika e col., 1971). En Telmatoscopus, es característica la presencia de asinapsis. En Rhynchosciara, Mathingly y Parker (1968), señalan zonas asinápticas para los cromosomas B y C, aunque con poca frecuencia.

Las características estructurales y de funcionamiento cromosómico de una especie del género Rhynchosciara, procedente de la zona Rio Toro (La Merced-Chanchamayo), diferentes en muchos aspectos a las especies estudiadas en Sao Paulo (Brasil) y Texas (USA), han hecho posible el presente trabajo, como un pequeño aporte al estudio de estructura y manifestaciones fisiológicas de los cromosomas politénicos.

MATERIAL Y METODOS

Fueron utilizados para el presente trabajo, grupos de larvas del género Rhynchosciara, Díptera, Sciaridae, colectadas en las localidades de Rio-Toro (La Merced-Chanchamayo), situada a 1,200 metros sobre el nivel del mar. Esta región se caracteriza por la vegetación propia de las vertientes occidentales, con una temperatura promedio de 22°C.

La población colectada fue mantenida en el laboratorio por el método de Lara e col., (1965), modificada por Morgante e col., (1970).

Utilizamos para el presente trabajo aproximadamente 100 grupos de larvas nacidas en diferentes épocas. El estudio fue iniciado con larvas de mas o menos 8 días de edad y se continuó hasta el final del estado larval. El control se realizó diariamente y se trabajó con grupos de hembras y machos.

El estudio del desarrollo de los cromosomas politénicos se llevó a cabo, utilizando la sección S1 de la glándula salival de la larva. La coloración fue hecha con orcein lacto acética al 1% (Nicolletti, 1959; Targa, 1969). Para las disecciones se utilizó un microscopio esteroscopio Bausch & Lomb y las observaciones cromosómicas fueron realizadas con un microscopio compuesto Bausch & Lomb.

Las larvas fueron disecadas en solución fisiológica al 0,9%, fijadas en etanol-acético (3 partes de alcohol absoluto y 1 parte de ácido acético glacial) durante un minuto.

Después de fijado, el material fue colocado sobre una laminilla siliconizada conteniendo una gota de solución de Targa (9:5:6, partes de ácido acético, ácido láctico y agua destilada, respectivamente). Finalmente se adicionó una gota de orceína lacto acética. Se adhirió la laminilla a una lámina gelatinada, colocándola en posición superior.

La preparación fue presionada primero con un estilete y luego entre hojas de papel filtro; éste para conseguir el estiramiento de los cromosomas y eliminar el exceso de colorante. Para evitar la evaporación del colorante, los bordes de la laminilla fueron sellados con esmalte.

Para la observación de las características cromosómicas durante el desarrollo larval, se confeccionaron dibujos con el auxilio de la cámara clara y directamente de las preparaciones citológicas con un fotomicroscopio Bausch & Lomb. Las copias fotográficas fueron obtenidas con el auxilio de una copiadora y papel F4 marca Kodak.

RESULTADOS

De las observaciones citológicas realizadas en los cromosomas politénicos de glándula salival de Rhynchosciara durante el desarrollo larval, hemos obtenido los siguientes resultados:

Las glándulas salivales se observan a ambos lados de la porción anterior del intestino. Se originan de un punto común por debajo del primer anillo proximal de la larva.

La glándula salival puede alcanzar una longitud aproximada a las 4/5 partes de la longitud total de la larva. Las células presentes en cada glándula salival son de diferentes tamaño y características y, al igual que en Rhynchosciara americana (Pavan, 1965) se les ha dividido en tres secciones denominadas: S1, S2, y S3.

La Sección S1, presenta las células de mayor tamaño y estas se observan ordenadas lateralmente a un conducto.

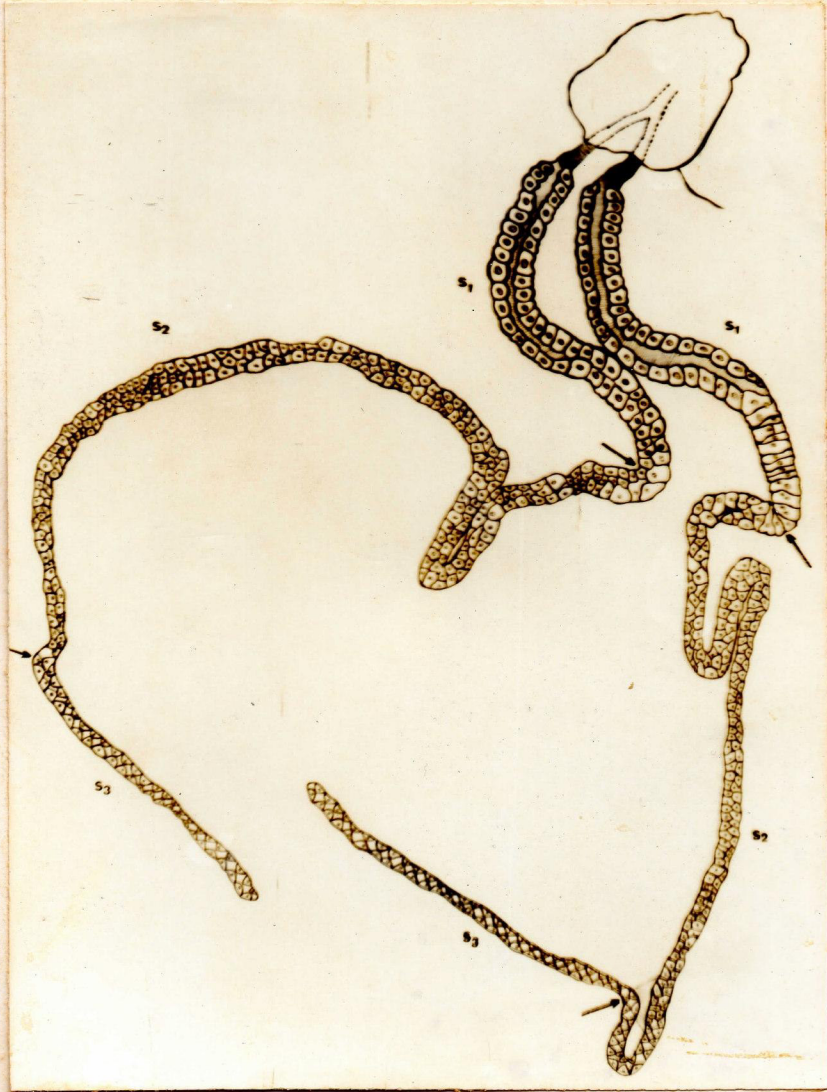
La Sección S2, es la de mayor longitud, con células de tamaño mediano, dispuestas en toda el área de la glándula.

La Sección S3, porción extrema de la glándula, es la de menor tamaño. Las células en esta sección son las más pequeñas de la glándula, y se observan en disposición desordenada. (Fig. 1).

En los núcleos de la glándula salival se han observado cuatro cromosomas bastante grandes y de características marcadas, las que han sido identificadas como A, B, C y X

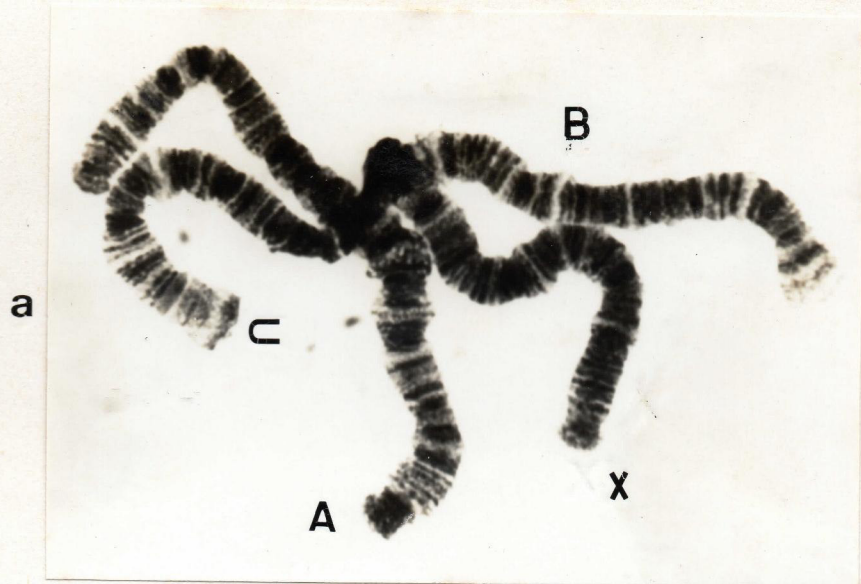
Fig. 1

Dibujo con Cámara Clara de la glándula salival,
mostrando las secciones S1, S2 y S3.



Figs. 2a.b

Cromosomas A, B, C y X de la sección S1 de glándula
salival



(éste último es llamado de cromosoma sexual) de acuerdo con el sistema para cromosomas politénicos en R. americana empleado por Pavan y Breuer (1952) y Breuer y Pavan (1955). (Fig. 2).

Cada uno de estos cromosomas han sido divididos en regiones. El número de estas regiones varía por la diferencia en el tamaño de los cromosomas. En una región determinada en cada cromosoma se observa la región heterocromática; donde se ubica el centrómero. Así el cromosoma A con 18 regiones presenta el bloque heterocromático en la región 11, lo que determina que dicho cromosoma sea llamado de submetacéntrico. Los cromosomas B, C, y X, con 15, 11 y 12 regiones respectivamente, presentan el bloque heterocromático en la última región y por lo tanto son llamados de acrocéntrico.

En las preparaciones citológicas realizadas en diferentes etapas del desarrollo larval, hemos observado que la región heterocromática de los cuatro cromosomas politénicos estudiados no permanecen morfológicamente iguales.

En algunas ocasiones la heterocromatina del cromosoma A, se ha presentado compacta y en éste momento aparece fuertemente teñida; ésto ocurre generalmente a medida que la larva se acerca al estadio de pupa. (Fig. 3a). En otras ocasiones, el bloque heterocromático aparece como una región bastante globosa y poco teñida, dando la impresión de estar despiralizada. Este estado de la heterocromatina se observa en pleno estadio larval del individuo y en algunos casos la región se presenta hinchada. (Fig. 3b).

Figs. 3a, b

Cromosomas A. La flecha indica la región heterocromática.

a



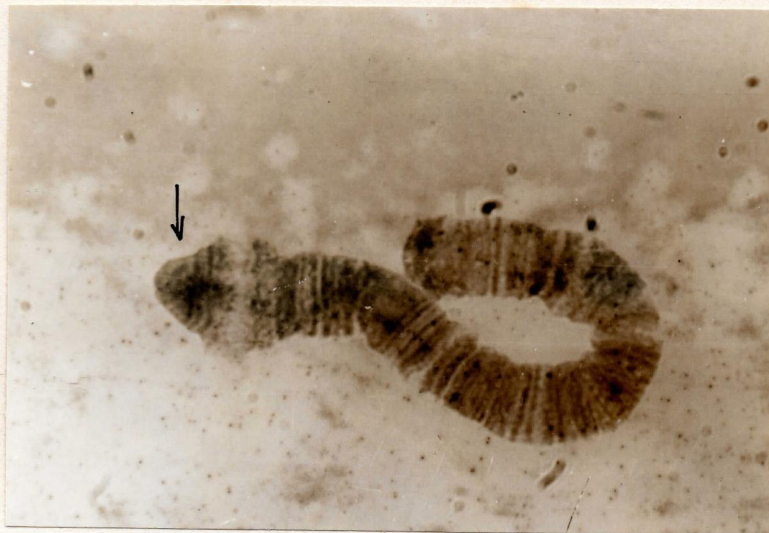
b



Figs. 4a. b

Cromosomas B. La flecha indica la región heterócromática

a



b



Figs. 5a. b.

Cromosomas C. La flecha indica la región heterocromática.



El cromosoma B, presenta el bloque heterocromático en forma de cono unas veces y en forma redondeada otras veces; estado limitado por dos bandas heterocromáticas gruesas, que las separa de la región eucromática. Estas bandas se encuentran en el límite de las regiones 14 - 15 (Fig. 4a, b). En este cromosoma se han observado ciclos de espiralización y desespiralización de la región heterocromática. Esto se ha podido notar porque la zona permanece casi siempre fuertemente coloreada.

El cromosoma C, presenta la heterocromatina en algunas ocasiones redondeada y compacta, y en otros estadios ella puede presentarse algo desespiralizada; por lo tanto poco teñida. En la parte central de la heterocromatina; se ha observado también una zona bastante clara dando la impresión de dividir a esta región en dos porciones. (Fig. 5a, b).

El cromosoma X, presenta la heterocromatina como un bloque circular desespiralizado al inicio de la vida larval - para hacerse compacto conforme avanza el desarrollo del individuo. La región heterocromática está limitada por dos bandas gruesas. En algunos casos se presenta como un bloque con formaciones laterales redondeadas. (Fig. 6a, 6b).

En algunos casos, la desespiralización observada - en la heterocromatina de los cromosomas A, B, C y X presentan - una forma vacuolada. (Fig. 7).

Figs. 6a, b.

Cromosomas X. La flecha indica la región heterocromática.

Los segmentos (—) indican la presencia de puffs.

a



b



Fig. 7

a) Cromosoma A

b) Cromosoma B

c) Cromosoma C y X

La flecha indica la región heterocromática vacuolizada.

a



b



c



Fig. 8

- a) Cromocentro uniendo cuatro cromosomas.
- b) Cromocentro uniendo tres cromosomas.
- c) Cromocentro uniendo dos cromosomas.

a



b



c



Los cromosomas de la glándula salival (S1) se han observado en muchas proporciones citológicas unidas por el cromocentro. Esta estructura que es compacta en los primeros días de vida larval se hace gradualmente frágil, observándose entonces cromocentro con cuatro, tres y dos cromosomas. (Fig. 8a, 8b).

Hemos observado otras estructuras que mantienen también a los cromosomas unidos y ordenados en los núcleos. Estas estructuras son llamadas de ligaciones y se han observado como filamentos intracromosómicos e intercromosómicos.

En el cromosoma A, se ha observado con mucha frecuencia una ligación intracromosómica entre las regiones (9-11). Otras ligaciones intracromosómicas en el mismo cromosoma, son las observadas en las regiones (1-9), (2-8), (3-6), (7-16). (Fig. 9a, b, c, d). Regiones (2-4), (10-12), (11-1), (11-10). (Fig. 10a, b, c). Regiones (11-18), (17-11), (11-18), (17-12), (8-11), (12-18). (Fig. 11a, b, c, d).

Para el cromosoma B, se han reportado las siguientes ligaciones intracromosómicas, en las regiones (15-6). (Fig. 11d). Regiones (15-10), (15-12), (14-10), (1-7). (Fig. 12a, b, c, d). Regiones (1-12). (Fig. 13a).

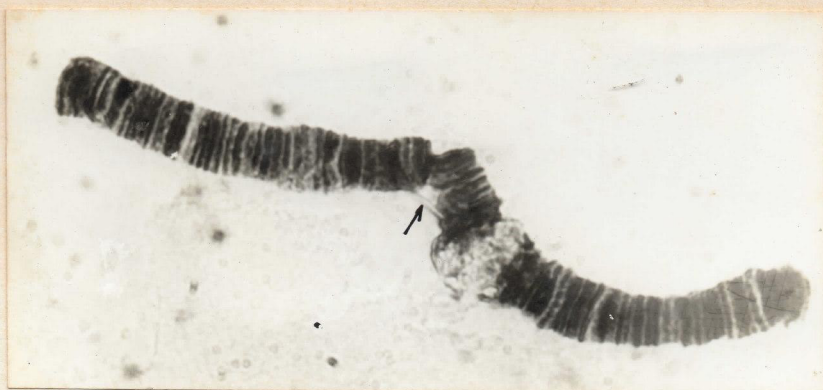
En el cromosoma C, hemos observado ligaciones intracromosómicas que relacionan las regiones (4-1). (Fig. 12d). Regiones (11-1), (5-2), (7-11), (2-11). (Fig. 13a, b, c, d). Regiones (10-11). (Fig. 14a).

Fig. 9

Cromosoma A. La flecha muestra una ligación:

- a) Ligación 9-11
- b) Ligación 1-9
- c) Ligaciones 2-8, 3-6
- d) Ligación 7-16

a



b



c



d



Fig. 10

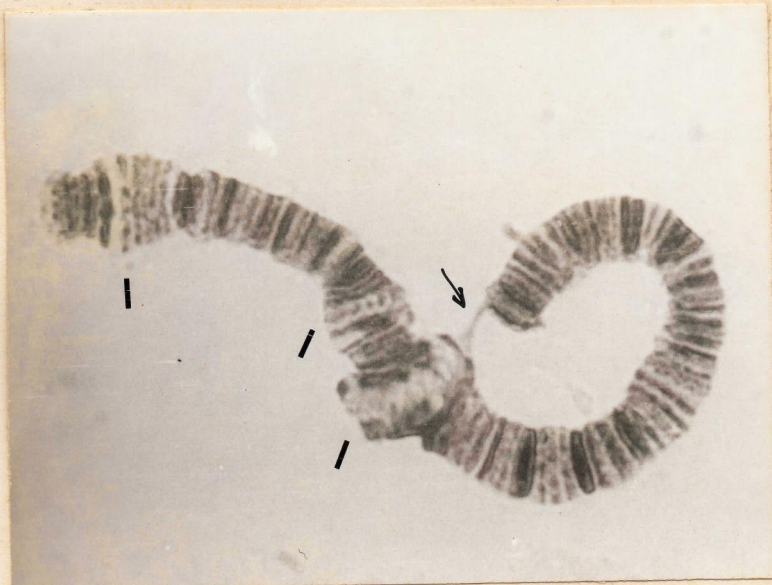
Cromosoma A. Los segmentos (—) indican la presencia de puffs. La flecha indica una ligación:

- a) Ligaciones (10-12), (2-4)
- b) Ligación (11-1)
- c) Ligaciones (11-10) , (2-4)

a



b



c



Fig. 11

- a) Cromosoma A, mostrando ligación (11-18) y (12-17)
- b) Cromosoma A, mostrando ligación (17-11), (11-18)
- c) Cromosoma A, mostrando ligaciones (1-11), (9-17)
- d) Ligación intracromosómica en el cromosoma A, (2-8).
(11-8).

Ligación intracromosómica en el cromosoma B (15-6).

Ligación intercromosómica (15B-15A), (15C-15A).

a



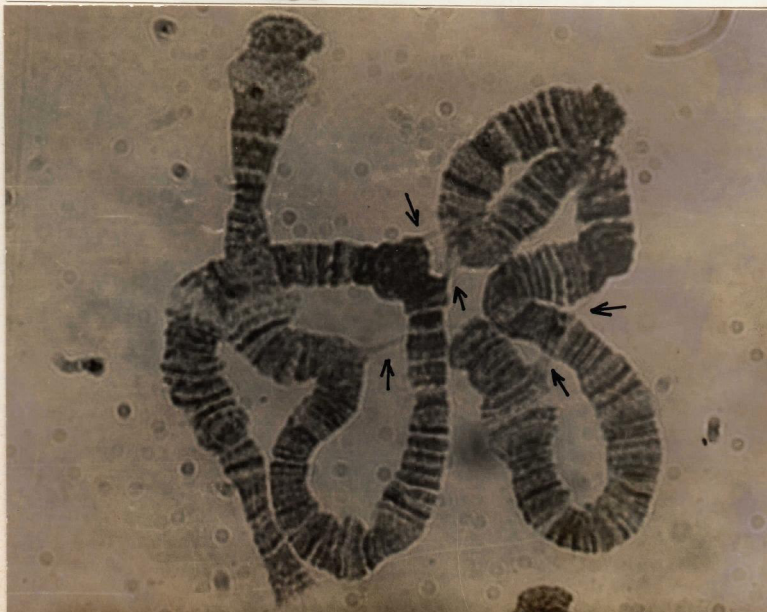
b



c



d



El cromosoma X, se caracteriza por presentar con mucha frecuencia una ligación intracromosómica entre las - bandas (3-7). (Fig. 14a,b). Otras ligaciones intracromosómicas se han observado entre las regiones (2-9), (12-1) y finalmente una ligación muy corta es observada entre la región heterocromática y la región 11. (Fig. 15a, b, c).

Entre las ligaciones intercromosómicas hemos podido reportar las observaciones de ligaciones que unen las regiones (9A-10B), (11C-13A). (Fig. 16a, b). Regiones (11A-12X), (12X-9A) que han sido observadas con mucha frecuencia durante el desarrollo larval del individuo; y la que se encuentra entre las regiones (5A-12X). (Fig. 17A,b).

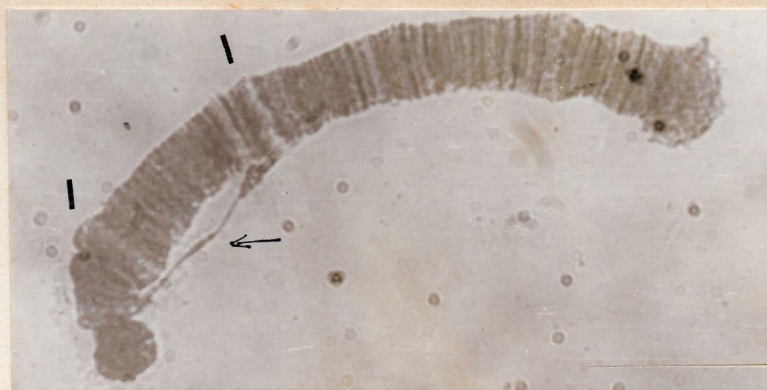
Otras ligaciones ocurren entre las regiones (15B - 11C), (18A-12X), (18A-10C), (15B-12X). (Fig. 18a, b,c). Regiones (11C-13B). (Fig. 12d). Regiones (5X-11A). (Fig. 2b). Regiones (11C-15A), (15B-15A). (Fig. 11d). Regiones (12X-11B). (Fig. 14a).

El nucleolo en la especie estudiada se ha observado generalmente como una estructura de la región heterocromática del cromosoma sexual X. Es una estructura de morfología variada que se tiñe ligeramente con el colorante (orceína) y permanece algo translucido. Asociado se han observado fibras cromáticas que podrían ser proceso de desespiralización de las regiones heterocromáticas, y que reciben el nombre de nucleolonema. (Estable y Sotelo, 1951). (Fig. 19b).

Fig. 12

- a) Cromosoma B, mostrando ligación (15-10).
- b) Cromosoma B, mostrando ligación (15-12).
- c) Cromosoma B, mostrando ligación (14-10).
- d) Ligación intracromosómica en el cromosoma B (1-7).
Ligación intracromosómica en el cromosoma C (4-1).
Ligación intercromosómica (11C-13B).

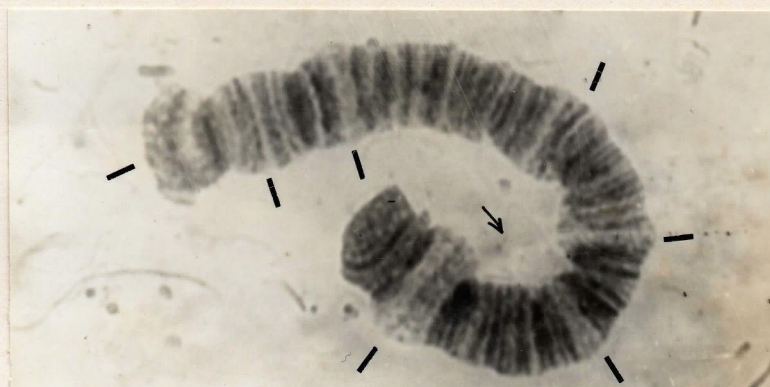
a



b



c



d



Fig. 13

Las flecha indican la presencia de ligaciones.

- a) Ligación intracromosómica (11-1).
- b) Ligación intracromosómica (5-2).
- c) Ligación intracromosómica (7-11).
- d) Ligación intracromosómica (2-11).

Los segmentos indican frecuencia de puffs.

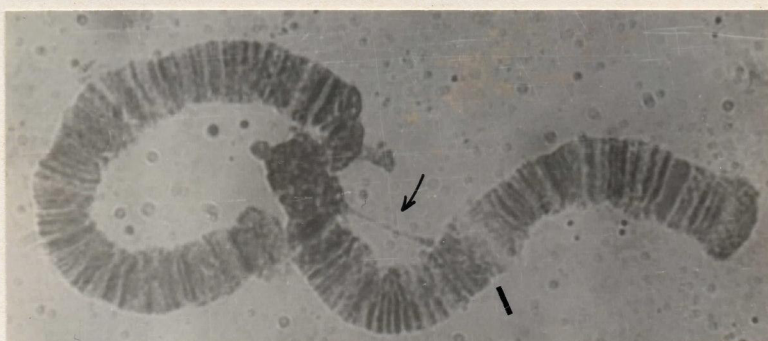
a



b



c



d



Fig. 14

La flecha indica frecuencia de ligaciones.

a) Ligación intracromosómica en el cromosoma X (3-7).

Ligación intracromosómica en el cromosoma B (15-10).

Ligación intracromosómica en el cromosoma C (11-10).

Ligación intercromosómica (11B-12X).

b) Ligación intracromosómica en el cromosoma X (3-7).

Los segmentos indican la frecuencia de puffs.

a



b



Algunas veces se ha observado el nucleolo rodeado al cromocentro y en pocos casos en las regiones heterocromáticas del cromosoma A (Fig. 19c), cromosoma B. (Fig. 20a) y en el C. (Fig. 5a).

En otras muestras citológicas, hemos reportado la presencia de un nucleolo único o también fracciones de nucleolo muy similares a lo reportado por Brito da Cunha (1969) como micronucleolo. Estos micronucleolos se han observado aislados o en racimos, asociados a la región heterocromática del cromosoma X o a bandas heterocromáticas del cromosoma A, específicamente entre las regiones (9-10). (Fig. 20b,c,d).

En la región eucromática hemos observado algunas características referentes a las bandas cromosómicas, formación de puffs y disparcamiento cromosómico.

Algunas bandas de los cromosomas A, B, C y X, se presentan gruesas dando la impresión de estar heterocromatizadas. Esto en algunos casos, ocurre durante toda la vida larval.

En el cromosoma A, se presentan dos bandas gruesas que constituyen los límites de las regiones (10-11) y (11-12). Entre las regiones (17-18) se observan dos bandas gruesas. En el límite de las regiones (9-10) se puede observar una gruesa banda que presenta la apariencia de una ojiva hueca. Igual característica se observa entre las regiones (8-9). (Fig. 25).

El cromosoma B, también presenta en algunas regiones estos tipos de bandas. La región (15) presenta dos bandas fuertemente engrosadas, que marca el límite de las regiones (14-15). En la región (13) se pueden observar 4 bandas -

Fig. 15

La flecha indica la presencia de ligaciones:

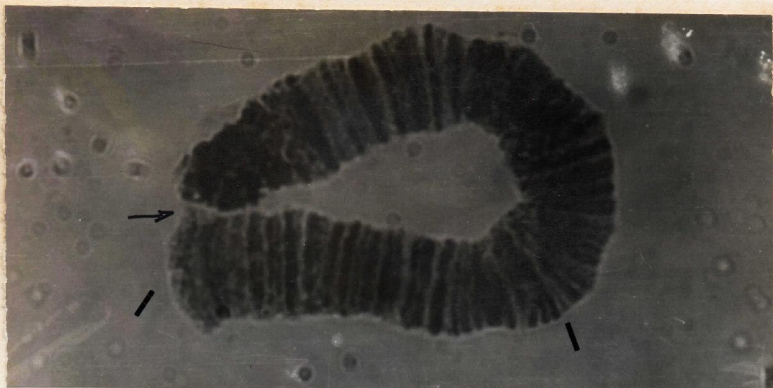
- a) Ligación en el cromosoma X (2-9) y (3-4).
- b) Ligación en el cromosoma X (12-1).
- c) Ligación en el cromosoma X (11-12).

Los segmentos indican presencia de puffs.

a



b



c



Fig. 16

La flecha indica la presencia de ligaciones.

a) Ligación intercromosómica (9A-10B).

c) Ligación intercromosómica (17C-13A).

a



b



Fig. 17

La flecha indica la presencia de ligaciones
intercromosómica.

a) Ligaciones (11A-12X), (A-12X).

b) Ligación (5A-12X).

a



b



medianamente gruesas. En la porción proximal de la región (4) se observan dos bandas gruesas semejantes a las que son observadas en la porción distal de la región (5). (Fig.26).

En el cromosoma C, hemos observado dos bandas gruesas en la región (2). Estas dan la apariencia de ser una sola, debido a que entre ellas se presentan bandas grises muy homogéneas. Una banda gruesa es también observada en el límite de la región (10). (Fig. 27).

En el cromosoma X, hemos podido observar dos bandas gruesas entre las regiones (11-12). Reportamos una banda gruesa en la porción central de la región (11) y una en el límite de las regiones (10-11). El límite de las regiones (8-9), se caracteriza por la presencia de dos bandas gruesas. Hemos observado también bandas gruesas dobles en la región (7) y (3); así mismo, en la región (4) y entre las regiones (2-3), (Fig. 28).

Los puffs observados durante el desarrollo larval se caracterizan por su diversidad en el tamaño y ubicación a lo largo de cada uno de los cromosomas estudiados.

El cromosoma A, presenta en la región (1) (Fig.22a) un puff pequeño que adquiere la forma de abanico. En la región (2) se observa un puff que alcanza al fin del estado larval un gran tamaño. (Fig. 21a). En la región (9) se observa un puff de tamaño mediano que parece se origina por la desespiralización de las cuatro bandas presentes en dicha región. (Fig.21b).

Fig. 18

La flecha indica la presencia de ligación intercromosómica.

a) Ligación intercromosómica (18A-12X), (15B-11C), (18A-10C).

b) Ligaciones intercromosómica (15B-11C)

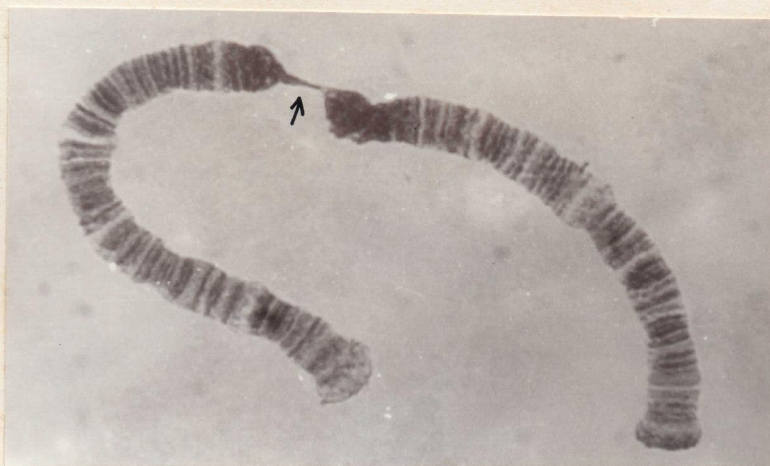
c) Ligaciones intercromosómica (15B-12X).

Los segmentos indican la presencia de puffs.

a



b



c



Fig. 19

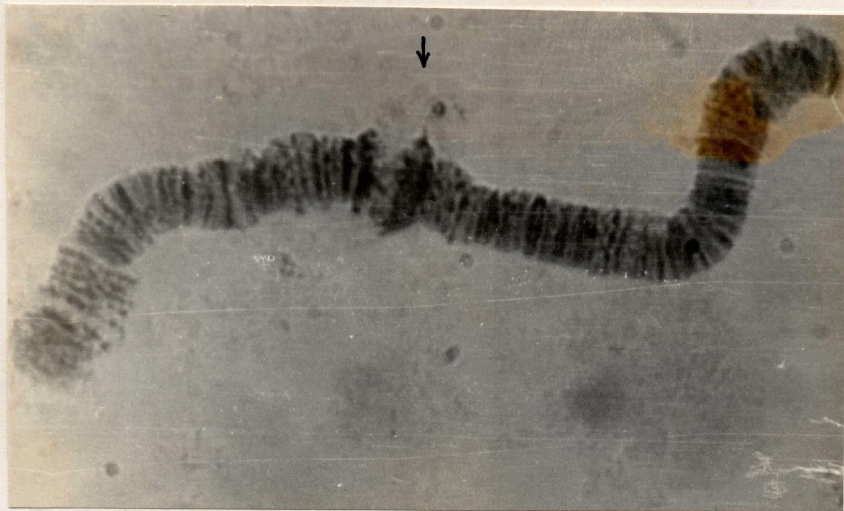
La flecha indica la presencia de nucleólo.

- a) Cromosoma X
- b) Cromosoma A, presencia de nucleolonema
- c) Cromosoma A.

a



b



c



Fig. 20

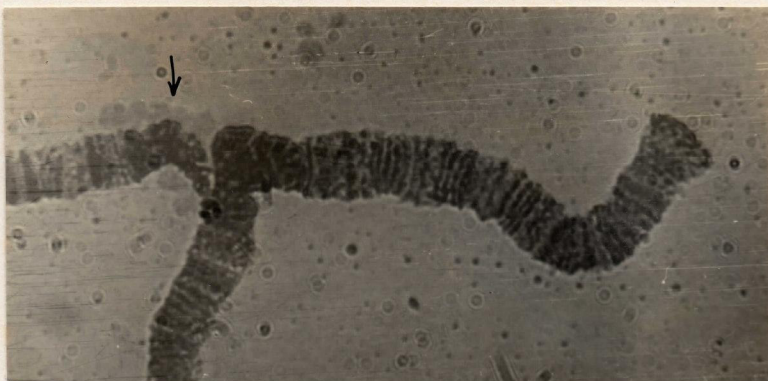
Las flechas indican la presencia de nucléolo y micronucleólo.

- a) Cromosoma B, presencia de nucléolo.
- b) Cromosoma X, B, C, indicando presencia de micronucleólo.
- c) Cromosoma A, presencia de micronucleólo en algunas bandas.
- d) Cromosoma A, presencia de micronucleólo en algunas bandas.

a



b



c



d



Fig. 21a. b

Los segmentos señalan la presencia de puffs en el cromosoma A.

Las flecha indican la presencia de ligamento.

a



b



Casi al finalizar el estadio larval hemos observado un puff de gran tamaño en las regiones (10) (Fig. 3a) y (11); éste último pertenece a la región heterocromática y va disminuyendo en tamaño conforme avanza al estadio pupal. (Fig. 3b).

Un puff mediano se ha observado en la región (13), cuya mayor actividad coincide con la del puff de la región (17). (Fig. 10b). En la región (16) (Fig. 22 a) se observan dos puffs uno de ellos hacia la región (17) y el otro hacia la región (15), (Fig. 21a, 10a). En la región (17) (Fig. 22a) y casi al final del estadio larval se observa un puff cuyo desarrollo involucra a la totalidad de las bandas de la región (18) se caracteriza por presentar un puff mediano que se forma casi por la misma época de desarrollo de los mencionados anteriormente. (Fig. 2b).

En el cromosoma B, aparecen algunos puffs con características marcadas, tal es el caso de la región (1) donde el puff al igual que en el cromosoma A, tiene la forma de abanico, con la diferencia que éste último es más pequeño. (Fig. 12c). Un puff de tamaño mediano se observa en la región (10) y uno de gran tamaño en la región (14), (Fig. 12a). Puffs de tamaño pequeño fueron observados en las regiones (3), (5) (Fig. 12c) y (12). (Fig. 13a).

El cromosoma C, presenta en la región (1) al igual que en los cromosomas A y B, un puff de tamaño grande que adquiere la forma de abanico. (Fig. 22b, c). Otros puffs de tamaño grande se observan en las regiones (3) (Fig. 13d) y (6) (Fig. 13c). Los puffs de las regiones (4), (8) (Fig. 27) y

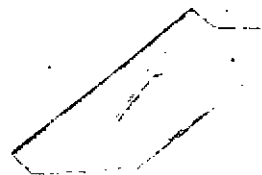


Fig. 22

Los segmentos señalan la presencia de puffs.

- a) Cromosoma A
- b) Cromosoma C
- c) Cromosoma C

a



b



c



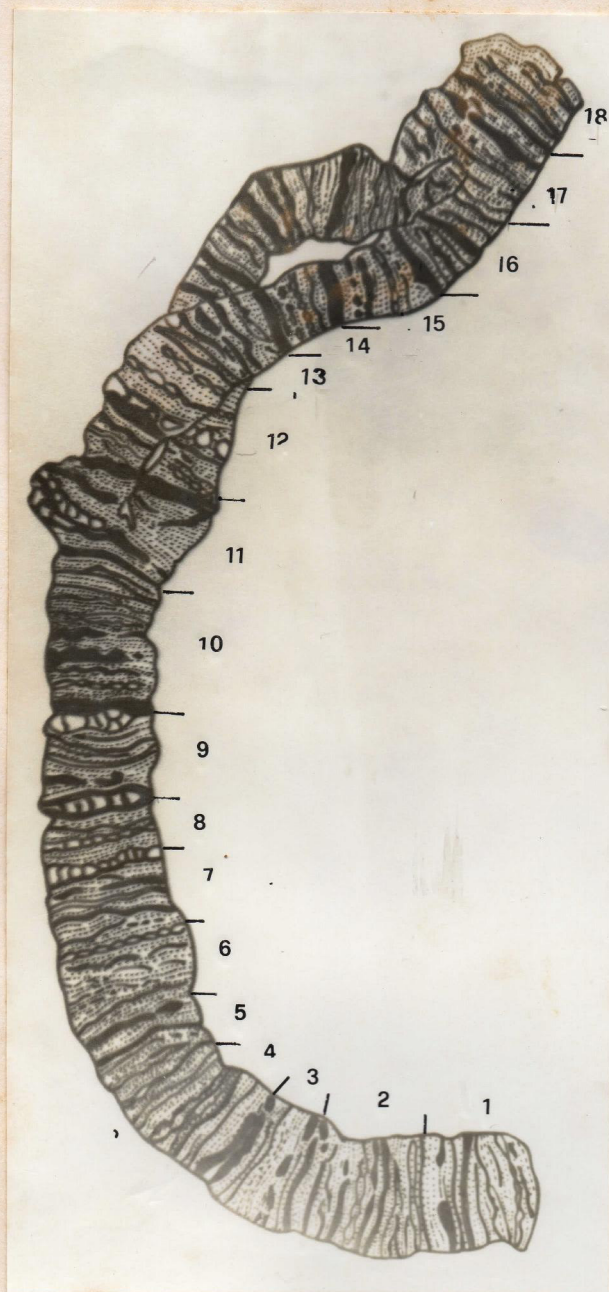
Fig. 23

Disparamiento en el cromosoma A, en las regiones (11-17).

Disparamiento en un homólogo de la región (16-17).

- a) Dibujo con cámara clara del cromosoma A, mostrando disparamiento.
- b) Fotomicrografía del cromosoma A, mostrando disparamiento.

a



b



Fig. 24

La flecha indica la presencia de disparamiento en la región
(9) del cromosoma X.

a



y (10) (Fig. 22b) son de tamaño pequeño.

En el cromosoma X se ha reportado la presencia de puffs en la región (1), (Fig. 15b) en la región (2), un puff (Fig. 6b), uno grande en la región (8) (Fig. 6a) y finalmente dos puffs en la región (11) uno grande en la parte proximal y otro mas pequeño en la parte distal de la región. (Fig. 16a, b).

En las observaciones realizadas se han reportado la presencia de regiones de los cromosomas estudiados, disparcadas. En estas regiones disparcadas, tanto las bandas, interbandas y puffs, se observan en ambos brazos.

En el cromosoma A, se observa un marcado disparcamiento que abarca desde la región (11) hasta la región (16). En algunos casos se observa que dicho disparcamiento empieza a manifestarse desde las regiones extremas para finalmente hacerse total. Dentro de este disparcamiento se ha podido observar en la región (16) otro, en uno de los brazos homólogos lo que podría determinar un doble disparcamiento. En parte de las regiones (12-13) se ha observado un disparcamiento. (Fig. 23).

En el cromosoma B, no se ha observado disparcamiento en ninguna región. En la misma forma que en el cromosoma C.

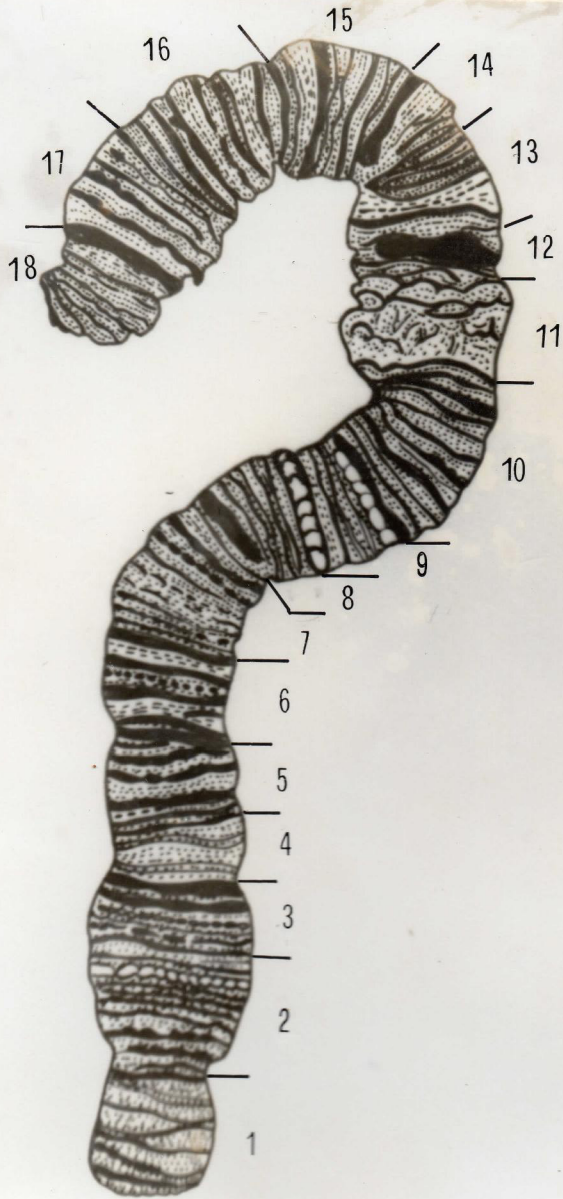
El cromosoma X, presenta un disparcamiento que abarca totalmente la región (9). (Fig. 24).

Fig. 25

Características de las diferentes regiones del cromosoma A.

- a) Dibujo co cámara clara.
- b) Fotomicrografía del cromosoma A.

a



b

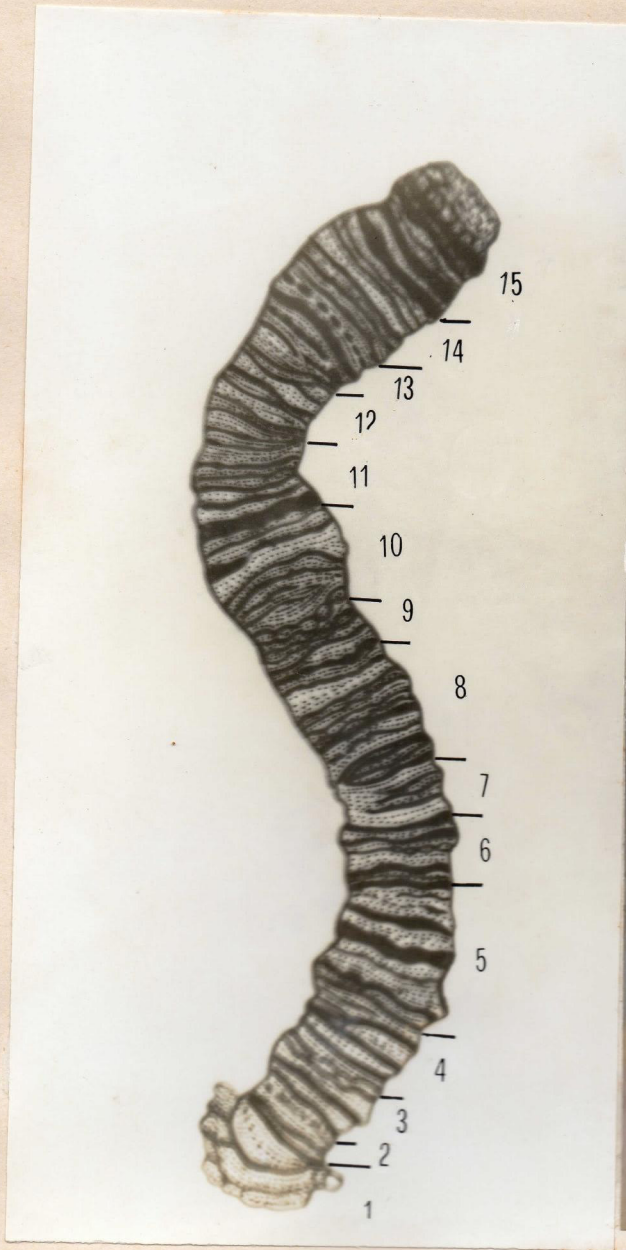


Fig. 26

Características de las diferentes regiones del cromosoma B.

- a) Dibujo con cámara clara.
- b) Fotomicrografía del cromosoma B.

a



b



Las observaciones comentadas anteriormente de los cromosomas de la sección S1 de glándula salival, nos han permitido con el auxilio de la cámara clara y la fotomicrografía hacer un esbozo de los mapas de los cromosomas A,B,C y X, cuyas características presentamos en las figuras (25,26,27 y 28).

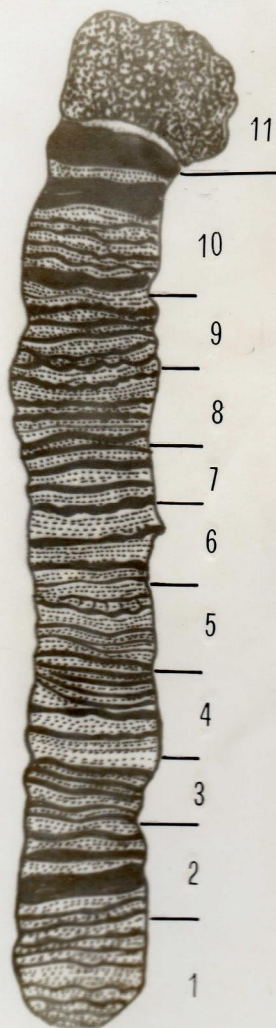
Fig. 27

Características de las diferentes regiones del cromosoma C.

- a) Dibujo con cámara clara.
- b) Fotomicrografía del cromosoma C



a



b

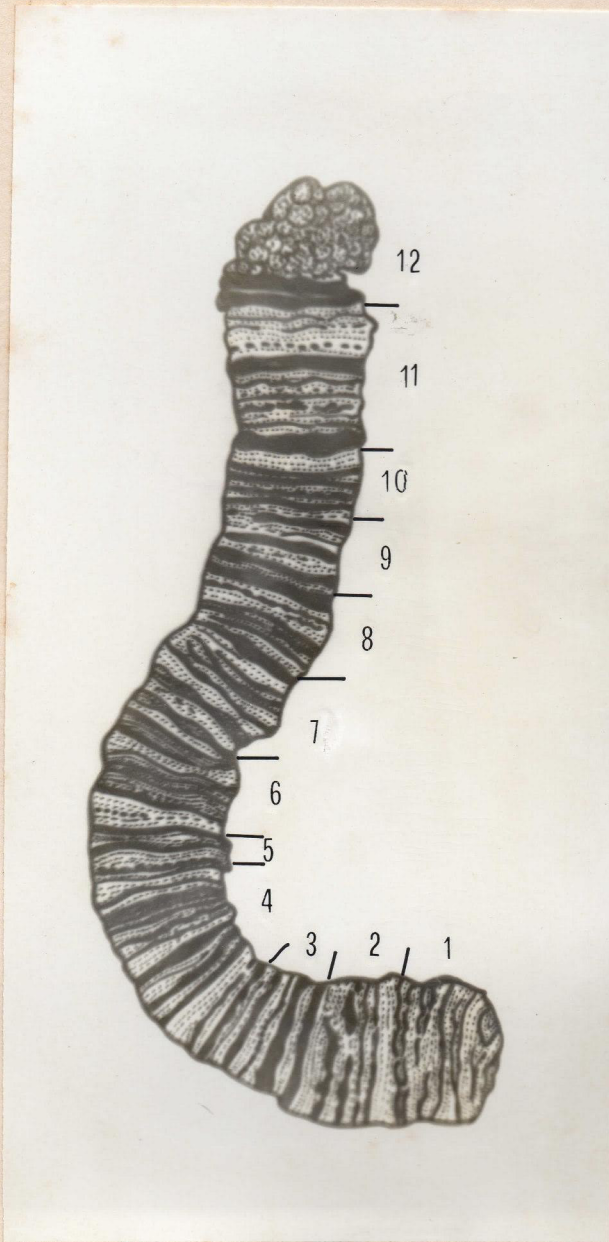


Fig. 28

Características de las diferentes regiones del cromosoma X.

- a) Dibujo con cámara clara.
- b) Fotomicrografía del cromosoma X

a



b



DISCUSION

Los resultados obtenidos del estudio de una especie del género Rhynchosciara, de la localidad de Rio-Toro (La Merced-Chanchamayo), nos muestra algunas características comunes y diferenciales con especies del mismo género estudiadas en otros países.

En R. americana, se observan 4 cromosomas, los cuales son llamados de A, B, C y X (Breuer e Pavan, 1955).

En la especie estudiada hemos reportado también 4 cromosomas, los que han sido designados al igual que para R. americana como cromosomas A, B, C, y X.

En los cromosomas politénicos, que al igual que en los cromosomas metafásicos, se puede diferenciar la región heterocromática de la región eucromática. Esto nos ha permitido observar algunas características comparables con las mismas regiones de otras especies.

En R. americana, las regiones heterocromáticas de los cromosomas de la glándula salival, se encuentran en las regiones 18, 15, 11 y 12 (para el A, B, C, y X, respectivamente). (Dreyfus e col., 1951).

En el presente trabajo hemos observado que las regiones heterocromáticas, no obstante presentar las mismas ubicaciones que R. americana, difieren en su morfología.

Las características morfológicas de la región heterocromática puede o no variar en diferentes especies de Insectos (Dípteros). En D. melanogaster, la región heterocromática mantiene sus características morfológicas durante el desarrollo larval (Freire Maia e Pavan, 1949).

En Rhynchosciara sp. la variación morfológica de la zona heterocromática del cromosoma A, se hace mas marcada al final del estadio larval. Este comportamiento ha sido observado también en los cromosomas B y X en preparaciones in vitro, pero menos acentuado (Simoni e Cestari, 1974). Guevara (1971), reporto diversos cambios morfológicos durante el desarrollo larval de R. americana en el cromosoma X de glándula salival, intestino y tubos de malpighi.

Durante el desarrollo de nuestro trabajo, hemos podido observar algunas variaciones morfológicas en la región heterocromática. El caso mas notorio se observa en el cromosoma A de glándula salival, donde la región heterocromática comienza a hincharse alcanza un máximo y luego decrece hasta volver a su estado normal al final de la vida larval. Esta modificación tiene la apariencia de un puff.

Las regiones heterocromáticas a veces forman un bloque que recibe el nombre de cromocentro. En D. melanogaster se observa esta estructura cromocéntrica en el lugar donde emergen los brazos eucromáticos (Freire, Maia e Pavan, 1949). En Anatophyna dyari, mosca de la familia Chironomidae, las regiones centroméricas de los cromosomas III, IV y VI presentan cromocentros que han sido determinados por medio de marca-

dores. En éste caso el cromocentro presenta también pareamiento ectópico (Bedo, 1974).

En Telmatoscopus sp. como las estructura cromosómicas no presentan heterocromatina marcada, no se ha observado la presencia de un cromocentro (Amabis e Simoes, 1971). En Sciara pausiceta, la no ubicación del centrómero en los cromosomas politénicos impide la ubicación del cromocentro.

En R. americana, las regiones heterocromáticas manifiestan una atracción no específica y tienden a formar un marcado cromocentro que se hace frágil conforme avanza la edad de la larva. Este cromocentro ha sido señalado en tubo de malpighi y vesícula seminal (Dreyfus e col, 1951) y en glándula salival, intestino y tubo de malpighi, desde el inicio de la vida larval hasta pasar los 35 días (Guevara, 1975). Caso similar al reportado para R. americana se observa en las especies del presente trabajo.

Kauffman y Gay (1969), reportaron la presencia de filamentos o ligaciones terminales entre los cromosomas X, 2L, 2R, 3L y 3R de D. melanogaster. En D. hydei, las regiones distales se presentan ligadas, observándose también que el cromosoma X pocas veces se encuentra unido (Berendes 1962). En Sciara reynoldsi, se sabe, existen ligaciones terminales formando diferentes combinaciones de cromosomas. Estas pueden ser una anillo u otra forma irregular ó en forma de cadena. Frecuentemente se encuentran ligaciones en las regiones heterocromáticas (Rohm, 1947).

En R. americana, se observan dos tipos de ligaciones. Las llamadas ligaciones intracromosómicas y las inter cromosómicas; éstas se pueden presentar en cualquiera de los cuatro cromosomas, en diferentes tejidos y durante el desarrollo larval. Entre las ligaciones intracromosómicas para el cromosoma A, podemos mencionar : (3-9), (1-6), (16-9), (5-10), (16-9), (5-10), (16-1), (11-17), (2-12), (7-10), (18-12), (9-13), (13-15) y (9-11). En el cromosoma B, podemos mencionar las ligaciones (13-15), (3-7), (5-7), (1-13), (10-7), (13-9) y (13-12). El cromosoma C, presenta las siguientes ligaciones: (2-5), (10-4), (3-5), (1-4), (10-6), (3-11), (7-1). En el cromosoma X, se observan las ligaciones (3-7), (12-8), (9-1), (10-1), (12-1), (11-3).

En las especies estudiadas hemos reportado para el cromosoma A, las siguientes ligaciones intracromosómicas: (3-6), (1-9), (2-8), (16-7), (2-4), (10-12), (11-1), (11-10), (17-11), (18-11), (17-12), (8-11) y (12-18). Las ligaciones (11-18) y (11-9) unen dos bandas heterocromáticas del cromosoma. En el cromosoma B, hemos reportado las ligaciones (15-6), (15-10), (15-12), (14-10), (1-7), (1-12). El cromosoma C, presenta ligaciones en las zonas (2-5), (4-1), (11-1), (1-4), (10-11), (2-11). Para el cromosoma X, reportamos las ligaciones (3-7), que al igual que R. americana unen dos regiones que presentan similitud de bandas que pueden ser homólogos (Bárendes, 1962). También se observan las ligaciones (9-2) y (12-1).

Entre las ligaciones intercromosómicas podemos señalar las que unen las regiones (11A-12X), (12X-15B), (11C-11 15B), (11C-13B), reportadas también para R. americana (Guevara, 1975). Además hemos observado las ligaciones (9A-10B), (11C-13A), (12X-9A), (5A-2X), (18A-12X), (18A-10C), (11C-13B), (5B-11X), (11C-15A), (15B-15A), (12X-11B), que no han sido observadas en otras especies del género.

El nucléolo, presente en células interfásicas ha sido observado en cromosomas politénicos de D. melanogaster, como vesícula globosa con finos filamentos de cromatina, incluido en el cromocentro o en la base del cromosoma X asociado a la banda 20 (Viinikka e col, 1971). En Telmatoscopus sp. se observa ocasionalmente en los cromosoma II y IV (Amabis e Simoes, 1972).

En Hybosciera fragilis, se observan fracciones de nucléolos en forma de micronuéolos que ocuparían todo el espacio libre del núcleo. Es frecuente observarlo asociado a determinadas bandas del cromosoma (Da Cunha e col., 1968).

En R. americana, el nucléolo está asociado frecuentemente al cromosoma X, siendo su característica más notable, las modificaciones de forma y tamaño durante el desarrollo larval. Es característico también, la presencia de corpúsculos o fibras en el interior de su estructura. Se ha señalado también que el nucléolo puede estar asociado a los cromosomas somáticos (Guevara, 1971)

Para el caso de nuestro material de estudio, el nucléolo se ha observado asociado al cromosoma X, presentando también una forma y tamaño irregular durante el desarrollo larval. Hemos observado el nucléolo asociado a los cromosomas somáticos. Ocasionalmente hemos reportado la presencia de micronuécleolos en diferentes regiones cromosómicas.

Los puffs reconocidos por Beerman (1952) y Breuer y Pavan (1952) tienen singular importancia por su relación con la actividad del gen.

En D. pseudooscura, se han señalado 176 puffs, de los cuales 111 manifiestan cambios durante el desarrollo larval. Dichos cambios se acentúan durante la etapa de pre-pupa disminuyendo en la mitad del ciclo larval. Por otro lado, se ha relacionado el incremento de actividad de estos puffs con los procesos de metamorfosis que sufre la larva (Stocker y Kastrius, 1972).

En Chironomus tentans, la actividad génica también se manifiesta a través de los puffs y se origina en una o mas bandas, pudiendo manifestarse en uno o en diferentes tejidos. Los llamados anillos de Balbiani estan restringido a las glándulas salivales, siendo los mas característicos: BR1, BR2 y BR3 (Lambert, 1975).

En Telmatoscopus sp. se observan los llamados puffs heterocigotos, en los que se cree, el proceso de actividad se realiza en un solo homólogo (Amabis e Simoes, 1972). En S. coprophila, la presencia de puffs heterocigotos es muy característico, siendo su tamaño muy pequeño (Gabruzowycs-García, 1971).

En R. americana, se ha señalado la presencia de puffs de DNA y RNA en los diferentes tejidos estudiados. Algunos son comunes a todos los tejidos. Entre los puffs de RNA para glándula salival, se han observado en el cromosoma A: regiones 12, 13, 14, 15, 16, 10, 8, 7, 6, y 2. Para el cromosoma B, podemos señalar las zonas 10, 12, 13, y 14. En el cromosoma C, las zonas 3, 5, 7 y 8. En el cromosoma X, las zonas 2, 3 y 6 (Guevara, 1973).

En nuestros resultados no hemos podido observar la diferencia entre los puffs de DNA y RNA. Sin embargo algunos de los puffs observados por nosotros no han sido observados en R. americana.

En el cromosoma A, se observa un pequeño puff en la región 1, un puff en la región 2 que alcanza gran tamaño y desaparece al final de la vida larval. Un puff en la región 9 que parece envolver a las bandas de ésta región. En la región 11 se observa un puff que luego de alcanzar gran tamaño desaparece al final de la vida larval. Las regiones 12 y 16 presentan puffs con las mismas características. La región 17 presenta un gran puff mientras que la región 18 se caracteriza por presentar un puff pequeño.

En el cromosoma B, el puff de la región 1 muy semejante al observado en la misma región pero del cromosoma A. En forma progresiva hemos observado un pequeño puff en la región 2 y 3, un puff de tamaño mediano en la región 10 y un puff grande de la región 12 y 14. Para el cromosoma X vamos a señalar los puffs de las regiones 1, 2, 7, 8 y 11; éste último

de gran tamaño no mencionado para R. americana. En el cromosoma C, se reporta la presencia de puffs en las regiones 1, 2, 7, 8 y 11.

La asinapsis parcial de los cromosomas de glándula salival, ha sido observado en algunas especies de Insectos (Dípteros). En D. melanogaster, se ha reportado una asinapsis en la región 20 del cromosoma X muy cerca de la región nucleolar (Viinika e col, 1971). En Telmatoctopus sp. es característica la presencia de regiones asinápticas, pero son pocas las regiones que presentan bandas o puffs heterocigotos en éstas zonas.

En Rhynchosciara, Mathyngly and Parker, (1968) señalan zonas asinápticas para los cromosomas B y C, señalando su poca frecuencia.

Nuestras observaciones nos han permitido localizar regiones de asinapsis para el cromosoma A, entre las regiones (12-17). Dentro de éste estado de asinapsis entre las homólogos, se observa otro estado asináptico que incluye solamente la zona 16 de un solo homólogo. Para el cromosoma B, se observa una asinapsis entre las regiones (13-14), que podría ser muy semejante a lo observado por Mathyngly y Parker (1968) para la región (15-17) del mismo cromosoma. No se ha observado ningún caso de asinapsis en el cromosoma C. Para el cromosoma X, se señala como zona de asinapsis la región (9).

Los cromosomas politénicos de las diferentes especies de Insectos (Dípteros) mencionados anteriormente, están representados en los llamados mapas cromosómicos.

En Glossina morsitans, se ha preparado el mapa cromosómico, considerando las características que presentan las bandas de las 6 ramas cromosómicas. Se han considerado 146 bandas para el brazo XR; 101 para el brazo XL; 132 para el brazo L1R; 91 para el brazo L1L; 77 para el brazo L2R y 73 para el L2L.

En D. flavopilosa, el mapa cromosómico representa un número aproximado al número real de bandas. Se han considerado para el caso, un total de 100 secciones de igual longitud; esto con la finalidad de considerar a cada uno de los cromosomas por su tipo y patrón general de bandas. La identificación de zonas de gran variabilidad han podido ser llevadas al mapa cromosómico de la especie, que puede tener un significado evolutivo. (Brncic, 1962).

En Sciara ocellaris, se han dividido los cuatro cromosomas en secciones, teniendo en cuenta el tamaño de cada uno de ellos (Crouse, 1943; Metz, 1943).

En R. americana, el mapa fue elaborado de acuerdo con el patrón empleado por Breuer e Pavan (1952) para cada región y ampliado para el patrón de puffs por Guaraciaba y Toledo (1967). El cromosoma A ha sido dividido en 18 regiones; el cromosoma B en 15 regiones; el cromosoma C en 11 regiones y el cromosoma X en 12 regiones.

En una especie del género Rhynchosciara estudiada por Mathingly and Parker (1967), se ha considerado el patrón elaborado por Breuer y Pavan (1952) en términos generales, pero se han variado el número de regiones en los cromosomas B, C y X a quienes se les ha asignado 17, 14, y 17 regiones respectivamente.

En la especie del Rhynchosciara estudiada por nosotros, hemos seguido el patrón de bandas elaborado por Breuer e Pavan (1952). Sin embargo debemos destacar algunas diferencias en los estudios comparativos con R. americana. En el cromosoma A de nuestra especie, en la zona 2 se observan 6 bandas bastantes gruesas ubicadas muy cerca del límite con la zona 1. Las regiones límites (8-9) y (9-10) presentan dos bandas con apariencia de discos gruesos. La presencia de 4 ó 5 bandas, que no han sido señaladas por R. americana caracteriza la región 9. Dos bandas límites en la región 11 (heterocromatina). La región 4 presenta cuatro bandas marcadas aunque delgadas. En la región 17 se observan dos bandas a cada lado de ésta región y 5 bandas gruesas dentro de la misma región.

En el cromosoma B, hemos observado una banda gruesa en la región 1 y en la región 2. Dos bandas gruesas caracterizan a la región 3 y en la región 4 encontramos dos paquetes de bandas bien marcadas. Cuatro o cinco bandas en la región 13 y dos bandas límites en las regiones (14-15).

El cromosoma C, presenta dos bandas gruesas en la región 3 que no han sido señaladas por R. americana; igualmente, bandas heterocromáticas se han observado en las regiones 5 y 9 .

En el cromosoma X, se distinguen dos bandas gruesas que limitan la región heterocromática. Las bandas presentes en las regiones 3 y 7 se observan unidas por una ligación. Las bandas presentes en la región (8) y (11) no han sido señaladas para R. americana.

CONCLUSIONES :

Del estudio realizado en el presente trabajo se han obtenido las siguientes conclusiones:

1.- El número de cromosomas observado en las células de glándulas salival de la sección S1, es semejante al presentado en otras especies del mismo género.

2.- Las regiones heterocromáticas de los cuatro cromosomas pasan por ciclos de espiralización y desespiralización. El ciclo de desespiralización podría significar un estado de activación de los genes que se encuentran en la heterocromatina o cercanos a ella.

La región heterocromática del cromosoma A, es la que sufre mayores modificaciones durante el ciclo larval. Esto no se observa en otras especies del género Rhynchosciara

3.- Las regiones heterocromáticas de los cromosomas de la glándula salival se unen formando un cromocentro. Esto es observado también R. americana.

4.- Las ligaciones intra e intercromosómicas se han observado en los cuatro cromosomas estudiados. Existen diferencias de posición de ligaciones con respecto a R. americana. No se ha reportado en nuestro trabajo la presencia de ligaciones terminales, como en el caso de R. americana.

5.- Se ha observado la presencia de nucléolo asociado a las regiones heterocromáticas de los cuatro cromosomas en forma semejante a R. americana. En el presente trabajo hemos reportado la presencia de micronucléolos, hecho que no ocurre en las otras especies del mismo género.

6.- El estudio de las regiones mas características de los cromosomas, nos indican algunas diferencias con respecto a R. americana. La región 9 del cromosoma A se observa en nuestra especie con bandas regularmente marcadas. No existe en ésta región la "zona de nadie" reportada para R. americana.

En la región 3 del cromosoma C, se observan dos gruesas bandas entre las cuales se forman finas bandas. Esta característica tampoco se observa en R. americana.

En el cromosoma X, la región 11 presenta dos bandas gruesas : una en la parte central y otra en la parte final de la región (límite con la región 10), que no es observada en R. americana.

En el cromosoma B, las bandas gruesas de la región 13 reportadas para R. americana, se presentan en nuestra especie muy delgadas.

7.- En los puffs observados se señalan algunas diferencias con R. americana. como en el caso de los puffs (1), (9), (12) y el de la región heterocromática (11), del cromosoma A. Los puffs 1B, 1C y 1X. Ninguno de estos puffs se han observado en R. americana.

8.- Se ha observado la presencia de regiones dispersadas que podrian compararse con las presentadas por Dípteros de otros géneros. Este hecho no ha sido reportado para otras especies del género Rhynchosciara.

BIBLIOGRAFIA

- ALBURNQUE, R.M. and J.A. SERRA, (1951). Nucleolar zones of Chromosomes, Port. Act. Biol. Serv. A 3: 187-194.
- AMABIS, J.M., L.G. SINOES e A.N. CESTARI, (1969). Alteracoes morfológicas e fisiológicas nas regiões heterocromáticas de cromossomos politenicos "in vitro". Ciencia e Cultura, 21 (2) :249.
- AMABIS, J.M. and L.C. SINOES, (1972). Chromosome studies in a species of Telmatoscopus sp. Caryologia Vol 25, n.2 : 199-210.
- ASHBURNER, M., (1970). Function and structure of polytene Chromosomes during insect development. Advances in Insects physiology, 7:1-95.
- BAUER, H., (1936). Structure and arrangement of salivary gland chromosomes in Drosophila sp. Proc. Nat. Acad.Sci. 22:216-222.
- BASILE, R., (1969). Nucleic Acid Synthesis in nurse cells of Rhynchosciara angelae, Nonato e Pavan, 1951. Proc. of an international symposium Nuclear Physiology and Differentiation. Genetic 61:1, 261-273.
- BASILE, R., C. CASARTELLI and M. GUEVARA, (1970). Nucleic acid synthesis during the 3rd. molth period of Rhynchosciara americana. Rev. Brasil. Biol. (30) 2: 291-296.
- BEDS, G.D., (1970). Heterocromatic and disproportionato chromosome replication in Anatopynia dyaria (Díptera, Chironomidae). Chromosome 48: 181-190.
- BERENDES, H.D., (1963). The salivary gland chromosomes of Drosophila hydei Sturtevant. Chromosome. Berl. 14, 195-206.

- BROWN, S.W., (1966). Heterochromatin. Science 151:417-425.
- BROWN, S.W., and W. NELSON RESS., (1961). Radiation analysis of a leguminal genetic system. Genetics. 46:983-1007.
- BUSCH, H., P. BYVOET AND K. SMETANA, (1963). The nucleolus of the cancer cell. Rev. Cancer. Res., 23:313-339.
- CASPER ON, T. AND J. SCHULTZ, (1940). Ribonucleic acids in both nucleus and Cytoplasm and the function of the nucleolus. Proc. Nat. Acad. Sci. 26:507-515.
- CORDEIRO, M., L. WHEELER., C.S. LEE., C.D. Kastiris and R.H. RICHARDSON (1975). Heterochromatic Chromosomes and satellite DNAs of Drosophila nasutoides.
- CROUSE, H.V., (1943). Translocation in Sciara; Their bearing on Chromosome behavior and sex determination. Missouri Univ. Res. Bull. 379.:1-75.
- DA CUNHA, A.B., (1960). Chromosomal variation and adaptation in insects. Ann. Rev. Entomol. 5:85-110.
- DANEHOLT, B and J.E. Edstrom, (1967). The content of Deoxyribonucleic Acid in Individual Polytene Chromosomes of Chironomus tentans. Cytogenetics 6:350-356.
- DREYFUS A., E.F, NONATO, M.E. BREUER e C. PAVAN (1951). Cromossomos politenicos en varios orlaos de Rhynchosciara angelae. Rev. Bras. Biol., II:439-450.
- EST. BLE, C. y J.R. SOTELO (1951). Una nueva estructura celular: el nucleolonema. Pub. Inst. Investi. Cienc. Montevideo; 1:105-126.

FICQ, A., C. PAVAN AND J. BRACHET, (1958). Metabolic processes in Chromossomes Symp. Sci. Cell, Biol. Exper. Cell. Res. Suppl. 6: 105-114.

GABRUSEWYCZ-GARCIA, N., (1971). Studies in pol .one Chromosomes of Sciara (Lycoperiella) Pausiceta (II), Felt Chromosoma. Berl. 33:421-435.

GUARACIABA, H.L.B. and L.F. A. TOLEDO. (1967). Age determination of Rhynchoscicara angelae, larvae. Rev. Brasil. 27:321-332.

GUEVARA, M., (1971). Estudo citológico da fisiologia cromossomica durante o desenvolvimento larval de Rhynchosciara angelae. PhD Thesis, Departamento de Biologia, Universidade de Sao Paulo, 127 pp.

GUEVARA, M., (1975). Cromocentro-Centrômero e pareamento ectópico em cromossomos de varios tecidos de Rhynchosciara angelae, Nonato e Pavan (1951). Ciencia e Cultura, 27 (10):1132-1139.

GUEVARA, M. and R. B ASILE., (1973). DNA and RNA puffs in Rhynchosciara. Caryologia, 26:n 273-295.

HENNING, W., B. LINK and O. LEONCINI., (1975). The localitation of the nucleolus organizer regions in Drosophila hydei. Chromosoma 51-57-63.

HSU, T.C., (1974). Longitudinal Differentiation of Chromosomes. Annual Rev. of Genetics. Vol. 7:153-176.

- HUNGERFORD, D.A., (1964). Observations on the morphology and behavior of normal human chromosomes. In: Mammalian cytogenetics and related problems in radiography. Ed. C. Pavan, C. Ghagaz, O. Frota-Pessoa and L.R. Caldas New York. Pergamon Press, 133-115.
- KAMBYSELLIS, M.P. and M.R. WHEELER (1972). Banded polytene chromosomes in pericardial cell of *Drosophila*. Jor. hered 63: n.4
- KAUFMAN, B.P. and H. GAY., (1969). The capacity of the fourth chromosome of *Drosophila melanogaster* to establish end-to-end contacts with the chromosomes in salivary gland cells. Chromosoma, 26(4):395-409.
- KOSWIGG, G. and A. SHENGUM, (1947). "Intraindividual variability of Chromosome IV of *Chrionomus*. Jour. Herd. 33: 235-239.
- LARA , F.J. S., H. TAMAKI and C. PAVAN., (1965) Laboratory culture of *Rhynchosciara angolae*. Amer. Natur. 99:189-191.
- LEFEBRE, G. Jr., (1974). The relationship between genes and polytene chromosome bands. Annual, Review of Genetics. Vol. 8:51-62.
- MAGGIE, R., P. SIEKEVITZ and G.E. PALADE., (1963). Studies of isolated nucleic II. Isolation and chemical characterization of nucleolar and nucleoplasmic subfractions. Jour. cell. Biol. 18:203-312.

- MATHER, K., (1941). The genetical activity of heterochromatin
Proc. Roy. Soc 732:308-332.
- MATHINGLY, E. and C. PARKER., (1968). Sequence of puff formation
in Rhynchosciara, polytene chromosomes Chromosoma.
Berl. 23:235-270
- METZ, C.W., (1947). Duplication of chromosome carts as a fac-
tor in evolution Amer. Nature. 81:81-103.
- MORGANTE, J.S., J. MARQUEZ., A.B. DA CUNHA and I. ROMEO (1970).
Sobre a criacao de alguns Sciarideos (Dípteros). Rev.
Bras. Ent., 14:33-40
- MULLER, H.J., (1935). Aviable two gene deficiency phenotypically
hypomorphic mutations. Jour. Hered., 26:193-196.
- MULLER, H.J., (1947). The production of mutations. Jour. hered.
38:259-270.
- MULLER, H.J. and T. PAINTER., (1932). The differentiation of the
sex Chromosomes of Drosophila into genetical active
and inert regions z indukt. Abstamm-u Vererb-Lehere.,
62:316-365.
- NEWTON FREIRE, M. e C. FAVAN., (1949). Introducao ao estudo da
Drosophila. Separata Cultas ano 1 n 5: 1.
- NICOLETTI, S. (1959). An efficient method for salivary gland
preparation of Drosophila. Drosoph. Inform. Serv.,
33:181.
- PAINTER, T.S., (1933). A new method for the study of chromosome
rearrangements and the plotting of chromosome maps.
Science, 78: 585-586.

- PAINTER, T. S., (1934a). A new method for the study of chromosome aberrations and the plotting of chromosome maps in Drosophila melanogaster. *Genetics*, 19:175-188.
- PAVAN, C., (1964). Modern concept of chromosome structure and function. In Triangle. Sandoz Jour. Med. Scienc. 6: 287:293.
- PAVAN, C., (1965). Nucleic Acid. metabolism in polytene chromosome and the problem of differentiation. Brookhaven Symp. Biol. 18:222-241.
- PAVAN, C., (1966). Estrutura e funcao dos cromossomos. Elemento de Genet. Comp. Edit. Nac. Sao Paulo. 113-157.
- PAVAN, C. and M.E. BREUER. (1952). Polytene chromosomes in different tissues of Rhynchosciara. *Jour. Hered.* 43:150-157.
- PAVAN, C., and M.E. BREUER., (1955). Differences in nucleic acids content of the loci in polytene chromosomes of Rhynchosciara angelae according to tissues and larval stages. Symp. cell. secret. Ed. G. Schroiber. Belo Horizonte: 90-91.
- PROKOFIEVA-BELGOVSKAIA, A., (1947) Heterochromatization as a change in the chromosome cycle. *Lour. Genet.*, 48:80-98.
- ROHM, P.B., (1947). A study of evolutionary chromosome changes in Sciara (Diptera) Chromosome C in the salivary gland cells of Sciara ocellaris and Sciara reynoldsi. Univ. of Pensilvenia Philadelphia Vol. LXXXI January-Feb N° 796.

- SIMÕES, L.C.G., and A. N. CESTARI., (1969). Behavior of Polytene chromosome "in vitro". Genetics 61, supl. 361-372.
- SIMÕES, L.C., J.M. ANABIS and A.N. CESTARI (1974). Puffs in the heterochromatin in chromosomes of Rhynchosciara. Ciência e Cultura 27(2) 159-161.
- SLYZINSKI, B.M., (1950). Chironomus vs Drosophila Jour. Genetics 50:77-78.
- SOUTHERN, D.I., P.E. PELL and T.A. CRAIG CAMERON., (1973). Polytene chromosomes of the Tse Tse fly Glossina morsitans. Chromosoma Berl. 40:107-120.
- STONE, W. S. (1955). Genetic and chromosomal variability in Drosophila. Cold Spr. Harb. Symp. Quant Biol. 20:256-270.
- SEIFT, H., (1962). Nucleic acid and cell morphology in Diptera salivary glands. In the molecular control of cellular activity. Ed. J.M. Allen. 73-125.
- SWIFT, H., (1967). Molecular morphology of the chromosomes Inv. vitro. Vol. 1 The chromosome structure and Functional aspects. Org. George Yerganian, 26-49.
- TARGA, J.H., (1969). Sobre o uso de transplantes interespecíficos de discos inaginais de ovários para o estudo da diferenciação de espécies de Drosophila. PhD. Thesis, Depart. de Biol. Universidade de São Paulo, 80 pp.

- TRANZER, J.P., (1965). Utilisation de citrate de plomb pour la mise en évidence de la phosphatase alcaline au microscope-electronique. Jour Microscopie, 4: 409-412.
- VIINIKKA, T.A., HANNAH-ALAVA and P. ARAJARVI., (1971). A reinvestigation of the nucleolus organizing Regions in the salivary gland nuclei of Drosophila melanogaster. Chromosoma. 36, 34-35.
- VINCENT, W.S., (1952). The isolation and chemical properties of the nucleoli of starfish oocytes. Proc. Nat. Acad. Scie. 38:139-145.
- VINCENT, W.S., (1955). Structure and chemistry of nucleoli. Intern. Rev. Cyt. 4:269.
- WAGNAR, E.B., (1969). End to End chromosome attachment in mitotic interphase and their possible significance to meiotic chromosome pairing. Chromosoma, 26:410-426.
- WASSERMAN, M., (1954). Cytological studies of the repleta group. Univers. Texas. Publ. 5422, 130-152.
- WHITE, M.J.D., (1948). The cytology of the cecidemidae (Diptera) IV. The salivary gland chromosomes of several species. Morph. 82: 53-80.